

Abstract of JP 53-101515 A

This publication discloses that extracts from inflamed tissue inoculated with vaccinia virus has pharmacological activity including analgesic, sedative, antistress and antiallergic actions.

⑬日本国特許庁
公開特許公報

⑪特許出願公開
昭53-101515

| | | | | |
|------------------------|------|------------|---------|---------------------|
| ⑤Int. Cl. ² | 識別記号 | ⑫日本分類 | 庁内整理番号 | ⑬公開 昭和53年(1978)9月5日 |
| A 61 K 35/12 | AAE | 30 A 2 | 6617-44 | 発明の数 4 |
| | AAH | 30 H 111.5 | 5727-44 | 審査請求 未請求 |
| | ABF | 30 H 111.2 | 5727-44 | |
| A 61 K 35/36 | AAE | 30 H 23 | 5727-44 | |
| | AAH | | | (全 4 頁) |
| | ABF | | | |

⑭鎮痛、鎮静、抗アレルギー作用を有する医薬
及びその製造方法

⑯発明者 小西甚右衛門
豊中市中桜塚1丁目21番14号
⑰出願人 日本臓器製薬株式会社
大阪市東区平野町2丁目10番地
⑱代理人 弁理士 萼優美 外1名

⑲特 願 昭52-16498
⑳出 願 昭52(1977)2月17日

明 細 書

1. 発明の名称

鎮痛、鎮静、抗アレルギー作用を有する医薬
及びその製造方法

2. 特許請求の範囲

(1) 次の物理化学的性質：

- ① 性 状： かつ色無定形の吸湿性粉末
- ② 溶 解 性： 水、メタノール、エタノールに可溶
- ③ 紫外線吸収： UV_{max} 255-275nm
- ④ ニンヒドリン 反 応： 陽性
- ⑤ 本発明物質2mgをとり、過塩素酸1mlを加え、液が無色となるまで加熱し、希硫酸3ml、塩酸アミドール0.4gおよび亜硫酸水素ナトリウム8gに水100mlを加えて溶かした液2ml、モリブデン酸アンモニウム1gに水30mlを加えて溶かした液2mlを加え放置するとき、液は青色を呈し、
- ⑥ 本発明物質5mgをとり、水を加えて溶かし10mlとし、この液1mlに、オルシン0.2g

および硫酸第二鉄アンモニウム0.135gにエタノール5mlを加えて溶かし、この液を塩酸83mlに加え、水を加えて100mlとした液3mlを加え沸騰水浴中で加熱するとき、液は緑色を呈し、

- ⑦ 本発明物質の水溶液は硝酸銀試薬で沈澱を生じ、そして
 - ⑧ 本発明物質に対する各種蛋白検出反応は陰性である、
- を有する物質を有効成分とする鎮痛剤。

(2) 次の物理化学的性質：

- ① 性 状： かつ色無定形の吸湿性粉末
- ② 溶 解 性： 水、メタノール、エタノールに可溶
- ③ 紫外線吸収： UV_{max} 255-275nm
- ④ ニンヒドリン 反 応： 陽性
- ⑤ 本発明物質2mgをとり、過塩素酸1mlを加え、液が無色となるまで加熱し、希硫酸3ml、塩酸アミドール0.4gおよび亜硫酸水素ナトリウム8gに水100mlを加えて溶かした液2ml、モリブデン酸アンモニウム1g

に水 30ml を加えて溶かし、液 2 ml を加え放置するとき、液は青色を呈し、

- ⑤ 本発明物質 5mg をとり、水を加えて溶かし 10ml とし、この液 1 ml に、オルシン 0.2g および硫酸第二鉄アンモニウム 0.135g にエタノール 5ml を加えて溶かし、この液を塩酸 83ml に加え、水を加えて 100ml とした液 3ml を加え沸騰水浴中で加熱するとき、液は緑色を呈し、

⑥ 本発明物質の水溶液は硝酸銀試薬で沈澱を生じ、そして

- ⑦ 本発明物質に対する各種蛋白検出反応は陰性である、

を有する物質を有効成分とする鎮痛剤。

(3) 次の物理化学的性質

- ① 性 状 : かつ色無定形の吸湿性粉末
 ② 溶解性 : 水、メタノール、エタノールに可溶
 ③ 紫外線吸収 : UVmax 255-275 nm
 ④ ニンヒドリン反応: 陽性
 ⑤ 本発明物質 2mg をとり、過塩素酸 1ml を加え、液が無色となるまで加熱し、希硫酸 3ml、塩酸アミドール 0.4g および亜硫酸水素ナトリウム 8g に水 100ml を加えて溶かした液 2ml、モリブデン酸アンモニウム 1g に水 30ml を加えて溶かした液 2ml を加え放置するとき、液は青色を呈し、

有効成分を溶出する工程からなることを特徴とする、次の物理化学的性質:

- ① 性 状 : かつ色無定形の吸湿性粉末
 ② 溶解性 : 水、メタノール、エタノールに可溶
 ③ 紫外線吸収 : UVmax 255-275 nm
 ④ ニンヒドリン反応: 陽性
 ⑤ 本発明物質 2mg をとり、過塩素酸 1ml を加え、液が無色となるまで加熱し、希硫酸 3ml、塩酸アミドール 0.4g および亜硫酸水素ナトリウム 8g に水 100ml を加えて溶かした液 2ml、モリブデン酸アンモニウム 1g (希硫酸 2ml を加え) に水 30ml を加え放置するとき、液は青色を呈し、

- ⑥ 本発明物質 5mg をとり、水を加えて溶かし 10ml とし、この液 1 ml に、オルシン 0.2g および硫酸第二鉄アンモニウム 0.135g にエタノール 5ml を加えて溶かし、この液を塩酸 83ml に加え、水を加えて 100ml とした液 3ml を加え沸騰水浴中で加熱するとき、液は緑色を呈し、

- ⑤ 本発明物質 5mg をとり、水を加えて溶かし 10ml とし、この液 1 ml に、オルシン 0.2g および硫酸第二鉄アンモニウム 0.135g にエタノール 5ml を加えて溶かし、この液を塩酸 83ml に加え、水を加えて 100ml とした液 3ml を加え沸騰水浴中で加熱するとき、液は緑色を呈し、

- ⑦ 本発明物質の水溶液は硝酸銀試薬で沈澱を生じ、そして

- ⑧ 本発明物質に対する各種蛋白検出反応は陰性である、

を有する物質を有効成分とする抗アレルギー剤。

- 14) 発痘組織を磨砕し、これにフェノール 1g、グリセリン 1g を加えて抽出し、前記抽出液を等電点付近の pH に調整し、次いでこれを加熱ろ過して除蛋白を行い、除蛋白したろ液を弱アルカリ性条件下で加熱した後ろ過し、前記ろ液を酸性条件下で吸着剤と接触せしめ、そして水は有機溶媒を用いて前記吸着剤から抽出し、

- ⑦ 本発明物質の水溶液は硝酸銀試薬で沈澱を生じ、そして

- ⑧ 本発明物質に対する各種蛋白検出反応は陰性である、

を有する有効成分の製造方法、

3. 発明の詳細な説明

本発明は動物発痘組織より新規有効成分を製造する方法ならびに該有効成分を主成分とする医薬に関する。

本発明者はワクシニアウイルスを接種し、発痘させた各種動物組織、培養細胞、若しくは培養組織（以下これらを単に発痘組織という）中に含まれる生理活性物質について研究していたところ、発痘組織を特殊処理することにより鎮痛・鎮静・抗アレルギー作用を示し、特にストレス状態にある神経組織に対し特異的に作用する新規な有効成分の抽出に成功した。

本発明によれば、前記生理活性物質は以下の工程で抽出される。

- (a) 無菌的に採取した発痘組織を磨砕しその 1

～5倍量のフェノール加グリセリン水を加え、イオン交換樹脂を挙げることもできる。

ろ過又は遠心分離することによつて赤かつ色の液体を得る。

(b) 前記液体を等電点付近のpHに調整して加熱し、除蛋白した後サイツろ板を用いてろ過する。

(c) 前記ろ液を弱アルカリ性として煮沸した後ろ過し、強酸で弱酸性とした後適当な吸着剤に吸着させる。

(d) 前記吸着剤に水または有機溶媒を加えて溶出し、溶出液を減圧下に蒸発乾固又は凍結乾燥することによつてかつ色の目的物質を得る。

本発明において発痘組織とは、ワクシニアウィルスの各種接種方法又は培養方法にて得たウイルス感染培養組織、培養細胞および各種動物のウイルス感染炎症組織又はふ化鶏卵の漿尿膜等である。

前記工程(c)で用いる強酸としては、塩酸、硫酸、臭化水素酸等を挙げることができる。又、吸着剤としては活性炭、カオリン、イ

および硫酸第二鉄アンモニウム0.135gにエタノール5mlを加えて溶かし、この液を塩酸83mlに加え、水を加えて100mlとした液3mlを加え沸騰水中で加熱するとき、液は緑色を呈し、

⑦ 本発明物質の水溶液は硝酸銀試薬で沈澱を生じ、そして

⑧ 本発明物質に対する各種蛋白検出反応は陰性である。

以下は本発明の抽出法の実施例である。但し、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

実施例1

健康な成熟家兎の皮膚にワクシニアウィルスを接種し発痘させたのち、発痘した皮膚を無菌的に剥出し、これを細切したのち、フェノール加グリセリン水を加え、ホモゲナイザーで磨砕し、乳状とする。次いでこれを遠心ろ過し、得たろ液を塩酸でpH4.8-5.5とし、流通蒸気て100℃に加熱し、ろ過する。ろ液はさらにダイツろ板を用いてろ過したのち、水酸化ナトリウム

工程(d)において用いられる溶出溶媒としては水、メタノール、エタノール、イソプロパノール等があり、又これらの適当な混合溶液を使用することもできる。

前記操作によつて抽出、精製された本発明有効成分は以下の物理化学的性質を有する：

① 性 状：かつ色無定形の吸湿性粉末

② 溶解性：水、メタノール、エタノールに可溶

③ 紫外線吸収：UVmax 255-275nm

④ ニヒドリン反応：陽性

⑤ 本発明物質2mgをとり、塩化素酸1mlを加え、液が無色となるまで加熱し、希硫酸3ml、塩酸アミドール0.4gおよび亜硫酸水素ナトリウム8gに水100mlを加えて溶かした液2ml、モリブデン酸アンモニウム1gに水30mlを加えて溶かした液2mlを加え放置するとき、液は青色を呈し、

⑥ 本発明物質5mgをとり、水を加えて溶かし10mlとし、この液1mlに、オルシン0.2g

でpH9.2とし、さらに100℃に加熱した後、ろ過する。ろ液を塩酸でpH4.5とし、活性炭1.5gを加え、1～5時間攪拌した後ろ過する。この活性炭に水を加え、水酸化ナトリウムでpH9.4-10とし、3～5時間攪拌した後ろ過する。ろ液を塩酸でpH7.0-7.2とし、減圧下に乾固する。発痘皮膚1kgからの収量は1.5-2gであつた。

実施例2

実施例1と同様にして得た吸着活性メタノールを加え、1時間攪拌した後ろ過する。減圧下に乾固して有効成分を得る。発痘皮膚1kgからの収量は4～6gであつた。

本発明有効成分の薬理作用について次の試験を行い、その結果を要にまとめられた。

(I) 急性毒性試験

各群10匹のマウスを用いて、本発明有効成分の急性毒性試験を行なつた。その結果を次の第1表にまとめる。

第 1 表

| | LD 50 (mg/kg) | | |
|---------|---------------|------|-----|
| | P.O | i.p | i.v |
| 本発明有効成分 | 74800 | 1230 | 530 |

④ 薬理試験

以下の動物試験に用いられた BART ストレスマウスは喜多等の方法によつて飼育された BART ストレスマウスは体重増加がほとんどみられず、心拍数が増加し、QRS 時間の延長がみられるなど、強度のストレス状態を示し、温度の急変によつてもたらされる人間の自律神経失調症様状態を示す動物モデルとみることができる。

(1) 鎮痛作用

酢酸法により、一群20匹のマウスを用いて本発明有効成分の鎮痛作用を調べた。

効果判定は本発明有効成分 (6.3mg) を 10ml の生理食塩水に溶かしした溶液および生理食塩水 10ml を皮下注射したマウスのライジング回数が対照マウスの 50% 以下になつ

④ 臨床試験

以下の臨床試験においては、本発明有効成分 1mg を生理食塩水 1ml に溶解したものを注射剤として使用した。

(1) 鎮痛作用

神経痛および頭痛を訴える患者各20例 (男子10例、女子10例) に対し、前記注射剤1管を静注し、1時間以内に疼痛の改善度をみた。同様に生理食塩水 1ml を静注して対照とした。(第4表)

(2) 抗ストレス作用

ストレスが原因と考えられる胃潰瘍および十二指腸潰瘍の患者各々20例 (男12例、女8例)、10例 (男6例、女4例) に対し、症状に応じて前記注射剤1~2管を静注し、その疼痛の改善度をみた。(第5表)

(3) 抗アレルギー作用

アトピー性皮膚炎20例 (男7例、女13例) および気管支喘息20例 (男14例、女6例) の患者に、前記注射剤を毎日1~2管皮下

特開昭53-101315.4)

した場合を、鎮痛作用プラスとして、プラスマウスの全マウスに対する割合で評価した。

(第2表)

(2) 抗ストレス作用

一群15匹のマウス (体重約22g) を BART ストレス環境で飼育し、本発明有効成分投与群 (125mg/kg/日) と非投与群における体重変動を測定した。なお、対照として正常環境条件下で飼育したマウスの体重増加も同時に測定した。(第3表)

第 2 表

| | 投与量 | 鎮痛効果 (例) | |
|---------|------------|----------|------|
| | | 正常 | BART |
| 本発明有効成分 | 6.3mg/10ml | 0 | 42 |
| 生理食塩水 | 10ml | 4 | 9 |

第 3 表

| | 体重増加率 (例) | | |
|-------------|-----------|------|------|
| | 3日目 | 7日目 | 12日目 |
| 正常マウス | 1.2 | 3.7 | 7.9 |
| BARTマウス | -0.9 | -4.5 | -5.8 |
| BARTマウス+本発明 | 0.6 | 1.5 | 1.7 |

注射し、30日以内に各々皮膚炎、掻痒感及び発作回数の改善度をみた。(第6表)

第 4 表

| 症 状 | 効 果 | | | |
|-----------------|-----------|----------|----------|-----------|
| | +++ | ++ | + | - |
| (1) 神経痛 (対照) | 11 (0) | 6 (1) | 2 (4) | 1 (15) |
| (2) 頭 痛 (対照) | 12 (0) | 6 (1) | 2 (4) | 0 (15) |

第 5 表

| 症 状 | 効 果 | | | |
|------------|-----|----|---|---|
| | +++ | ++ | + | - |
| (1) 胃 潰 瘍 | 12 | 7 | 1 | 0 |
| (2) 十二指腸潰瘍 | 5 | 3 | 2 | 0 |

第 6 表

| 症 状 | 効 果 | | | |
|--------------|-----|----|----|---|
| | +++ | ++ | + | - |
| (1) アトピー性皮膚炎 | 12 | 7 | 1 | 0 |
| (2) 気管支喘息 | 2 | 8 | 10 | 0 |

特 許 出 願 人 日本臓器製薬株式会社
代 理 人 弁 理 士 専 優 愛
(ほか1名)